ProSpecT Astrovirus FR

Dosage sur microplaque

REF R240196..... Σ 96

1. INTÉRÊT

Le test ProSpecT™ Astrovirus est un dosage immunoenzymatique qualitatif avec amplification destiné à la détection de l'astrovirus dans les fèces humaines.

2. RÉSUMÉ

Les astrovirus (famille des Astroviridae) sont des virus de petite taille (28 nm), circulaires, à ARN simple brin (à polarité positive), qui se caractérisent par un aspect distinct en forme d'étoile[1,2]. Huit sérotypes humains au moins ont été identifiés à ce jour[3].

Les astrovirus sont aujourd'hui reconnus comme étant fréquemment à l'origine de gastro-entérites virales chez le jeune enfant, dans le monde entier[3,4]. La période d'incubation dure de 3 à 4 jours, et les symptômes se manifestent habituellement pendant 2 à 3 jours, mais ils peuvent persister jusqu'à 12 jours chez les personnes immunocompétentes, et sur une durée significativement plus longue chez les patients immunodéprimés. De récents rapports indiquent que l'incidence de l'infection à astrovirus pourrait avoir été considérablement sous-estimée, en raison des limites des méthodes diagnostiques disponibles. Ces études laissent entendre qu'après les rotavirus, les astrovirus pourraient représenter la seconde cause la plus fréquente de gastro-entérites virales infantiles et le troisième pathogène le plus fréquent, derrière l'espèce des salmonelles et les rotavirus dans les diarrhées[5,6,7]. Les astrovirus ont été associés à des épidémies de gastro-entérites dans des hôpitaux, des familles, des communautés et des instituts pour adultes. Des épidémies de grande envergure à médiation alimentaire ont également été rapportées au Japon[8,9].

Jusqu'à une époque récente, l'infection à astrovirus était traditionnellement diagnostiquée par microscopie électronique (ME). La ME repose sur une bonne préservation de la morphologie de l'échantillon et sur les compétences de l'opérateur. Néanmoins, étant donné que seulement 10 % des particules d'astrovirus affichent la morphologie typique en étoile, la détection peut souvent s'avérer difficile et conduire à une erreur de diagnostic[10,11]. De plus, en raison de leur petite taille, les astrovirus ne sont pas aussi faciles à observer que les rotavirus, et ils peuvent être confondus avec d'autres petits virus dont l'aspect structurel est circulaire. Par conséquent, le fait de recourir uniquement à la morphologie identifiée par ME en tant que critère diagnostique a entraîné une sous-estimation de l'incidence de ces virus. Bien que des améliorations aient été apportées aux techniques de culture[12,13], il s'agit rarement de la méthode de prédilection pour un diagnostic de routine, à cause d'un manque de sensibilité. Parmi les récentes avancées en matière de procédures diagnostiques figurent l'hybridation dot-blot, la PCR et les dosages immunoenzymatiques[11,14,15]. La disponibilité d'un antisérum spécifique dirigé contre des épitopes spécifiques de groupe, de genre ou de type a conduit à la mise au point d'immunodosages permettant la détection directe des antigènes15. Il a été démontré que ces dosages affichent une sensibilité accrue par rapport à la ME, et offrent une méthode de dépistage plus économique, plus fiable et plus rapide[7].

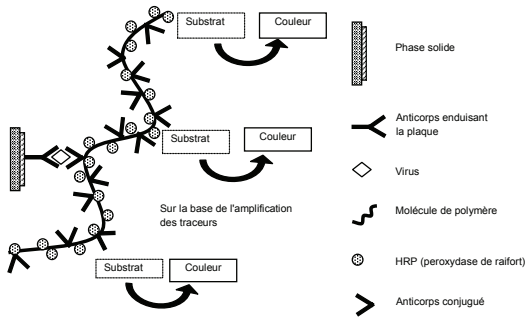
Récemment, une nouvelle génération d'immunodosages avec amplification, intégrant une technologie d'amplification des traceurs et des signaux, a démontré une sensibilité améliorée, comparable à celle des méthodes d'amplification moléculaire[16,17].

Le test ProSpecT Astrovirus est un dosage immunoenzymatique qualitatif avec amplification destiné à la détection rapide des astrovirus dans les échantillons de fèces humaines. Le test utilise une association d'anticorps monoclonaux et polyclonaux spécifiques du genre, ainsi qu'une amplification des traceurs, pour détecter toutes les souches connues d'astrovirus humains dans un immunodosage sur microplaque.

3. PRINCIPE DU TEST

Le dosage sur microplaque ProSpecT Astrovirus utilise un anticorps polyclonal et un conjugué polymère dextrane, avec une forte incorporation de molécules enzymatiques et d'anticorps, dans un immunodosage sur phase solide, afin de détecter l'antigène d'astrovirus. Les micropuits sécables sont enduits de l'anticorps polyclonal anti-astrovirus spécifique du genre. La suspension fécale est ajoutée au micropuits et l'antigène d'astrovirus présent dans l'échantillon se lie à la phase solide. L'anticorps monoclonal spécifique du genre conjugué à la dextrane se lie à l'antigène d'astrovirus capturé sur la phase solide, liant ainsi le complexe conjugué polymère qui incorpore les multiples molécules enzymatiques (amplification des traceurs). Un chromogène est employé pour détecter l'enzyme liée et provoque un changement de couleur qui est arrêté par l'ajout d'acide. Une intensité de couleur nettement supérieure aux niveaux d'arrière-plan indique la présence de l'antigène d'astrovirus dans l'échantillon.

Représentation schématique du principe du dosage ProSpecT Astrovirus



4. DÉFINITIONS DES SYMBOLES

Les symboles suivants sont utilisés dans l'ensemble des informations relatives au produit.

REF	Code et numéro de référence du produit
	Consulter le mode d'emploi
Σ N	Contenu suffisant pour « N » tests
	Fabriqué par
IVD	Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
	Utiliser avant
LOT	Code de lot
8°C 2°C	Limites de température de stockage

5. CONTENU DE LA TROUSSE

Σ 96 - Chaque trousse contient suffisamment de produits pour 96 déterminations. - La durée de conservation de la trousse est indiquée sur l'étiquette apposée sur l'emballage.

Conserver tous les composants entre 2 et 8 °C.

Avant utilisation, laisser tous les réactifs atteindre la température ambiante (20 à 25 °C) et mélanger délicatement. Après usage, stocker tous les réactifs non utilisés entre 2 et 8 °C.

Tous les réactifs, à l'exception du tampon de lavage, sont fournis prêts à l'emploi. Si le réactif est versé pour être utilisé avec des pipettes multicanaux, ne pas réintroduire le réactif en excès dans le flacon.

Mode d'emploi
Pipettes de transfert
Couvercle de microplaque
Certificat de contenu

Fiche de procédure

MICROTITRATION PLATE Une plaque de microtitration de 96 puits, composée de douze barrettes sécables de 8 micropuits enduits d'un anticorps polyclonal de lapin spécifique des astrovirus.

Un sachet métallisé refermable contenant un dessiccatif est fourni pour la conservation des micropuits non utilisés. Les micropuits peuvent être utilisés jusqu'à 16 semaines après l'ouverture initiale, sous réserve qu'ils aient été conservés correctement dans le sachet.

Un flacon de chacun des composants suivants :

SAMPLE DILUENT Diluant pour échantillon (120 ml) : solution saline avec tampon tris contenant un agent antimicrobien et une teinture rouge.

CONTROL + Contrôle positif (4 ml) : astrovirus inactivé de type 1 (protéine recombinante non infectieuse) dans une solution tamponnée contenant un agent antimicrobien.

CONTROL – Contrôle négatif (4 ml) : solution saline avec tampon tris contenant un agent antimicrobien et une teinture rouge.

CONJUGATE Conjugué polymère (12 ml) : anticorps monoclonal anti-astrovirus spécifique du genre conjugué à une structure polymère dextrane liée à de multiples molécules de peroxydase de raifort (HRP), dans une solution protéique tamponnée contenant un agent antimicrobien et une teinture bleue.

WASH BUFFER (x10) Tampon de lavage concentré (120 ml) (10x) : solution tamponnée au phosphate contenant un agent antimicrobien et un détergent.

Diluer le tampon de lavage concentré 10x en ajoutant 1 volume de concentré à 9 volumes d'eau distillée ou déminéralisée. Le tampon de lavage dilué reste stable sur une durée allant jusqu'à 30 jours lorsqu'il est conservé entre 2 et 8 °C.

SUBSTRATE TMB Substrat (12 ml) : 3,3'-5,5'-tétraméthylbenzidine dans un tampon légèrement acide.

STOP SOLUTION Solution d'arrêt (12 ml) : acide sulfurique à 0,46 mol/l.

6. PRÉCAUTIONS

IVD - Pour utilisation diagnostique in vitro. Toute personne procédant à un dosage avec ce produit doit être formée à son utilisation et avoir l'expérience des procédures de laboratoire.

Se référer à la fiche de données de sécurité du matériel (MSDS) et à l'étiquetage des produits pour prendre connaissance des informations relatives aux composants potentiellement dangereux.

CONSIGNES DE SANTÉ ET DE SÉCURITÉ

6.1. Le contrôle positif contient une protéine recombinante d'astrovirus de type 1 qui, pour sa manipulation et sa mise au rebut, doit être traitée comme potentiellement infectieuse.

6.2. La solution d'arrêt contient de l'acide sulfurique (0,46 mol/l).

6.3. Le tampon de lavage contient une substance qui peut s'avérer sensibilisante au niveau cutané (<1 % v/v). Éviter tout contact avec la peau. Porter des gants jetables en vinyle ou en nitrile.

6.4. Ne pas manger, boire, fumer, stocker ou préparer des aliments ni appliquer des cosmétiques dans la zone de travail désignée.

6.5. Ne pas prélever de produits dans une pipette par aspiration buccale.

6.6. Porter des gants jetables pour manipuler les échantillons cliniques et les réactifs. Toujours se laver les mains après avoir travaillé sur des produits infectieux.

6.7. Mettre au rebut tous les échantillons cliniques conformément à la législation en vigueur.

6.8. Les réactifs ProSpecT Astrovirus contiennent un agent antimicrobien propriétaire qui ne présente aucun risque pour l'utilisateur si les précautions de sécurité normales en laboratoire sont observées.

PRÉCAUTIONS ANALYTIQUES

6.9. Les composants ne doivent pas être utilisés après la date de péremption imprimée sur les étiquettes. Ne pas mélanger ou intervertir les réactifs suivants, sous peine de compromettre les performances : plaque, conjugué et contrôles.

6.10. Les réactifs communs suivants peuvent être utilisés pour toute la gamme de produits ProSpecT : tampon de lavage, substrat TMB et solution d'arrêt.

6.11. Éviter la contamination des réactifs.

6.12. En cas d'application d'une méthode par flacon compte-gouttes, s'assurer que tous les contrôles et réactifs sont ajoutés de la même façon. (L'application combinée des méthodes par pipettes et par compte-gouttes pourrait nuire aux performances de la trousse.)

6.13. Utiliser des pipettes jetables ou des pointes de pipettes différentes pour chaque échantillon, contrôle ou réactif (si ce ne sont pas des flacons compte-gouttes qui sont utilisés), afin d'éviter la contamination croisée des échantillons, des contrôles ou des réactifs qui pourrait conduire à des résultats erronés.

6.14. Stocker l'eau déminéralisée ou distillée destinée à la dilution du réactif concentré dans des récipients propres, afin d'éviter une contamination microbienne.

6.15. Éviter la contamination par les ions métalliques et les agents oxydants.

6.16. Ne pas utiliser de substrat présentant une couleur bleue avant son ajout dans les micropuits.

6.17. Protéger le conjugué et le substrat de la lumière.

6.18. Les micropuits ne sont pas réutilisables.

6.19. Le tampon de lavage de force réactive non utilisé peut être conservé jusqu'à 30 jours entre 2 et 8 °C pour une utilisation ultérieure. Lorsqu'ils ne sont pas utilisés, les réservoirs de tampon de lavage doivent être rincés à l'eau déminéralisée ou distillée et sécher à l'air.

6.20. L'équipement de lavage manuel ou automatisé doit être exempt de toute contamination microbienne, correctement étalonné et entretenu conformément aux instructions du fabricant.

6.21. Lors de l'utilisation de flacons de réactif compte-gouttes, tenir les flacons verticalement, la buse se trouvant à 5 mm environ au-dessus du micropuits. Serrer doucement le flacon et s'assurer que les gouttes tombent directement dans les micropuits, sans en toucher les côtés. Éviter la contamination de toutes les buses compte-gouttes.

7. PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS FÉCAUX

Les échantillons fécaux doivent être prélevés dès que possible après l'apparition des symptômes.

Les échantillons fécaux destinés à des tests directs doivent être prélevés dans des cuvettes exemptes de tout milieu, conservateur, sérum animal, ions métalliques, agents oxydants ou détergents, car tous ces additifs pourraient perturber le test ProSpecT Astrovirus.

En cas de prélèvement avec des écouvillons rectaux, ceux-ci doivent contenir suffisamment de matières fécales pour obtenir une suspension à 10 % de fèces (voir la section 8).

Les échantillons peuvent être conservés pendant 8 jours entre 2 et 8 °C avant le test. Pour une conservation à long terme, les échantillons fécaux doivent être stockés à -20 °C.

8. PROCÉDURE

MATÉRIEL NÉCESSAIRE FOURNI

Voir le contenu de la trousse, à la section 5

MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

Conteneurs pour prélèvement d'échantillons fécaux

Conteneurs jetables propres à bouchon à vis (d'une capacité minimale de 3 ml) pour la préparation des échantillons fécaux.

Papier absorbant propre (sur lequel les micropuits pourront être séchés).

Micropipettes de précision et pointes jetables permettant la distribution de volumes de 50, 100 et 1000 µl.

Conteneur de mise au rebut avec désinfectant frais adéquat.

Minuteur

Flacon de lavage pour le tampon de lavage

Eau distillée ou déminéralisée

MATÉRIEL FACULTATIF NON FOURNI

Lecteur de microplaque capable d'effectuer des lectures à 450 nm (avec une référence facultative à 620-650 nm).

Agitateur vortex avec adaptateur de plaques ou incubateur agitateur de plaques.

Laveur de plaques automatisé ou appareil adéquat pour le lavage de 8 barrettes de micropuits.

PROCÉDURE

8.1. Ouvrir le sachet métallisé, retirer le nombre nécessaire de barrettes de microplaque et les placer dans un support de barrettes de microplaque. Utiliser un puits pour le contrôle négatif et un puits pour le contrôle positif. Si moins de 8 puits doivent être utilisés, détacher d'une barrette le nombre nécessaire de puits et remettre les puits non utilisés dans le sachet métallisé contenant le dessiccatif. REFERMER HERMÉTIQUEMENT LE SACHET AFIN D'ÉVITER L'INTRODUCTION D'HUMIDITÉ, ET REMETTRE EN STOCKAGE ENTRE 2 et 8 °C.

DILUTION D'ÉCHANTILLONS FÉCAUX

Verser 1 ml de diluant pour échantillon dans un conteneur adéquat étiqueté et l'utiliser pour préparer une suspension ou une dilution à 10 % de l'échantillon fécal en ajoutant 0,1 g environ de fèces solides (un morceau de la taille d'un petit pois) ou 100 µl environ de fèces liquides au moyen de pipettes de transfert. Mélanger soigneusement et laisser la pipette de transfert dans le conteneur pour l'utiliser ultérieurement.

Faire tourner les écouvillons rectaux dans 1 ml de diluant pour échantillon, tout en pressant l'échantillon contre la paroi du conteneur pour libérer les matières fécales. Mélanger soigneusement.

Les suspensions fécales préalablement fixées dans du formol doivent être à nouveau diluées dans du diluant pour échantillon ProSpecT Astrovirus, afin de préparer une suspension à 10 % de fèces avant le test.

Les échantillons en suspension/dilution dans le diluant pour échantillon ProSpecT Astrovirus peuvent être conservés entre 2 et 8 °C pendant une durée maximale de 8 jours avant le test.

REMARQUE : Les échantillons fécaux préparés dans du diluant pour échantillon ProSpecT Adenovirus, ProSpecT Rotavirus ou ProSpecT Norovirus peuvent également être testés au moyen du test ProSpecT Astrovirus. L'utilisation d'autres diluants pour échantillon n'a pas été validée.

8.2. Ajouter 2 gouttes (ou 100 µl) de chaque échantillon dilué, de contrôle négatif ou de contrôle positif aux différents micropuits. Un contrôle négatif et un contrôle positif au moins doivent être inclus dans chaque lot de tests.

8.3. Après l'ajout de tous les échantillons et contrôles, utiliser une micropipette pour ajouter 100 µl de conjugué dans chacun des micropuits et mélanger délicatement pendant 20 à 30 secondes

8.4. Couvrir la plaque et incuber entre 20 et 30 °C pendant 60 +/- 5 minutes

8.5. Aspirer ou déverser le contenu des puits. Procéder au lavage en remplissant complètement chaque puits avec du tampon de lavage dilué (~350 à 400 µl par puits). Déverser tout le liquide des puits ou l'aspirer après chaque lavage. Procéder au lavage 5 fois au total. Après le dernier lavage, retirer le contenu et retourner la plaque sur des serviettes en papier propres ou aspirer. En cas d'utilisation d'un laveur automatique, celui-ci doit être programmé pour effectuer 5 cycles de lavage. Les laveurs doivent être correctement étalonnés afin de garantir que le remplissage et la vidange des micropuits sont complets entre chaque lavage. Après le lavage final, la plaque doit être renversée et tapotée sur du papier absorbant pour retirer les dernières traces de tampon de lavage.

8.6. Ajouter 2 gouttes (ou 100 µl) de substrat dans chaque micropuits.

8.7. Couvrir la plaque et incuber entre 20 et 30 °C pendant 10 minutes.

8.8. Les micropuits peuvent être lus visuellement immédiatement après la deuxième incubation (voir les sections 9 et 10).

8.9. Il est également possible d'arrêter la réaction du substrat en ajoutant 2 gouttes (ou 100 µl) de solution d'arrêt dans chaque micropuits. Veiller à bien mélanger les micropuits avant de lire les résultats. Le produit coloré est stable pendant 30 minutes au maximum après l'ajout de la solution d'arrêt.

8.10. Lire par spectrophotométrie à 450 nm (voir les sections 9 et 10).

9. CONTRÔLE DE QUALITÉ

Les contrôles positif et négatif doivent être inclus lors de chaque réalisation du test.

DÉTERMINATION VISUELLE

Tous les micropuits de contrôle négatif doivent être incolores. Si tel n'est pas le cas, les résultats du test ne doivent pas être déterminés visuellement.

Le micropuits de contrôle positif doit présenter une couleur bleue distincte et facile à distinguer du contrôle négatif.

DÉTERMINATION PAR SPECTROPHOTOMÉTRIE

La valeur du contrôle négatif, ou la moyenne des valeurs de contrôle négatif, doit être inférieure à 0,150 unités d'absorbance.

La valeur du contrôle positif doit être supérieure à 0,500 unités d'absorbance.

10. RÉSULTATS

DÉTERMINATION VISUELLE

Tout échantillon donnant une couleur bleue plus intense que celle du contrôle négatif est positif. Tout échantillon donnant une couleur équivalente à celle du contrôle négatif, ou moins intense que celle-ci, est négatif. Les micropuits pour lesquels l'intensité de couleur est difficile à interpréter par rapport au contrôle négatif doivent être lus par photométrie après ajout de la solution d'arrêt, ou testés à nouveau.

DÉTERMINATION PAR SPECTROPHOTOMÉTRIE

10.1. Les micropuits doivent être lus par photométrie dans les 30 minutes suivant l'ajout de la solution d'arrêt.

10.2. Mélanger le contenu des micropuits et lire l'absorbance de chaque micropuits à l'aide d'un spectrophotomètre réglé sur 450 nm. Veiller à ce que le fond des micropuits soit propre avant de procéder à la lecture. Le lecteur doit être soumis à un blanc sur l'air avant que la plaque ne soit lue.

10.3. Si le spectrophotomètre permet le recours à une longueur d'ondes de référence (à 620 ou 650 nm), une lecture en double longueur d'ondes doit être effectuée.

10.4. Calculer la valeur de seuil en ajoutant 0,100 unités d'absorbance à la valeur de contrôle négatif, ou à la valeur moyenne lorsque plusieurs contrôles négatifs sont utilisés.

10.5. Interprétation des résultats du test :

Positif : la valeur d'absorbance de l'échantillon clinique est > à la valeur seuil.

Négatif : la valeur d'absorbance de l'échantillon clinique est < à la valeur seuil.

Équivoque : la valeur d'absorbance de l'échantillon clinique se situe à moins de 0,010 unités d'absorbance de la valeur seuil. Ces échantillons doivent être à nouveau testés ou bien le patient doit être soumis à de nouveaux prélèvements.

11. LIMITES DE PERFORMANCE

11.1. La validité des résultats obtenus avec le dosage sur microplaque ProSpecT Astrovirus dépend du fait que les réactions des contrôles se déroulent comme prévu. Voir le contrôle de la qualité à la section 9.

11.2. Un résultat négatif n'exclut pas la possibilité d'une infection à astrovirus chez le patient. La non-détection de l'astrovirus

peut être due à des facteurs tels que le prélèvement de l'échantillon à un moment inadéquat de la maladie, alors que trop peu de virions étaient présents, un prélèvement inadéquat, une manipulation incorrecte de l'échantillon.

11.3. Le test ProSpecT Astrovirus détecte des protéines virales spécifiques du genre présentes dans les sérotypes humains d'astrovirus. Le test ne peut pas servir à différencier les sérotypes d'astrovirus, ou à détecter des sérotypes d'astrovirus non humains.

11.4. Les réactifs sont fournis à des concentrations de fonctionnement fixes. La performance du test sera affectée négativement si les réactifs sont modifiés ou conservés dans des conditions autres que celles qui sont détaillées à la section 5.

11.5. L'utilisation du dosage sur microplaque ProSpecT Astrovirus pour le test direct d'échantillons autres que fécaux est déconseillée, dans la mesure où une présence d'antigènes insuffisante ou un prélèvement inapproprié des échantillons pourraient engendrer des résultats négatifs trompeurs. Un résultat positif du test des échantillons fécaux, associé à l'existence de diarrhées, est hautement évocateur d'une gastro-entérite à astrovirus.

11.6. Un résultat positif n'exclut pas la présence d'autres pathogènes entériques. Même si la relation entre les astrovirus et la gastro-entérite est bien établie3,4, une infection concomitante par d'autres pathogènes microbiens est possible.

11.7. L'utilisation d'échantillons de méconium pour le dosage sur microplaque ProSpecT Astrovirus n'a pas été validée.

11.8. Les résultats du test doivent être interprétés conjointement avec les informations obtenues grâce aux études épidémiologiques, l'évaluation clinique du patient et d'autres procédures de diagnostic.

12. VALEURS ATTENDUES

Les taux de positivité peuvent varier en fonction de la prévalence des astrovirus dans différentes populations, du lieu géographique, du prélèvement des échantillons, de la manipulation, de la conservation et du transport des échantillons, du système de culture cellulaire employé et de l'environnement sanitaire général de la population de patients faisant l'objet de l'étude.

Les astrovirus se manifestent dans le monde entier, avec une recrudescence en hiver et au printemps dans les zones tempérées[18,19]. Les nourrissons de moins de 12 mois sont fréquemment touchés et, à l'âge de 5 ans, plus de 80 % des enfants montrent des preuves sérologiques d'infection antérieure[20].

Parmi les huit sérotypes humains, le type 1 est de loin le plus prévalent (> 60 %) au Royaume-Uni, et certains signes indiquent que sa fréquence augmente une année sur deux[21]. Il est fréquent d'observer des doubles infections par d'autres pathogènes entériques, en particulier des rotavirus[22].

13. CARACTÉRISTIQUES EN MATIÈRE DE PERFORMANCES

ÉTUDES CLINIQUES

Le test ProSpecT Astrovirus a été évalué de façon indépendante dans une étude clinique menée dans un centre de référence au Royaume-Uni.

L'étude a été conduite sur des échantillons fécaux prélevés sur 94 patients consultant pour une gastro-entérite (51 de sexe féminin, 42 de sexe masculin, 1 de sexe inconnu, tranches d'âges de 0,1 à 88,4 ans). L'étude avait pour objectif de comparer les performances du test ProSpecT Astrovirus par rapport au test déjà validé IDEIA™ Astrovirus. La microscopie électronique a été employée pour confirmer le statut des échantillons positifs.

Les résultats de l'étude sont donnés dans le tableau 13.1.

PERFORMANCE CLINIQUE

Le test ProSpecT Astrovirus a montré une sensibilité de 100 % et une spécificité de 98,3 %.

Tableau 13.1 Sensibilité et spécificité comparées de ProSpecT Astrovirus et IDEIA Astrovirus

		IDEIA Astrovirus +	IDEIA Astrovirus -
ProSpecT Astrovirus	+	35	1[a]
	-	0	58
Sensibilité		98,3% (58/59)	
Spécificité		100 % (35/35)	

[a] Positivité de l'échantillon confirmée par microscopie électronique

PRÉCISION

Précision intra-dosage

La précision intra-dosage a été évaluée en utilisant trois échantillons fécaux représentatifs d'échantillons de positivité faible, moyenne et haute. Chaque préparation de contrôle a été testée 24 fois dans huit dosages effectués par deux opérateurs. L'absorbance moyenne et le coefficient de variation moyen pour la précision intra-dosage ont été déterminés.

Tableau 13.2 Précision intra-dosage moyenne du test ProSpecT Astrovirus

Échantillon	AB moyenne	CV moyen en %
Faible	0,454	5,3
Moyenne	0,973	4,4
Haute	1,568	4,2

Précision inter-dosages

La précision inter-dosages a été évaluée en utilisant trois échantillons fécaux. Chaque dilution a été testée dans huit dosages effectués par deux opérateurs, et les valeurs d'absorbance moyennes ainsi que le coefficient de variation ont été déterminés.

Tableau 13.3 Précision inter-dosages du test ProSpecT Astrovirus

Échantillon	AB moyenne	CV moyen en %
Faible	0,454	5,7
Moyenne	0,973	5,1
Haute	1,568	3,7

RÉACTIVITÉ CROISÉE

Les micro-organismes suivants ont été testés et avérés négatifs dans le test ProSpecT Astrovirus. Des tests de réactivité croisée ont été effectués sur des échantillons cliniques dont le statut microbien avait été déterminé ou sur des cultures de laboratoire d'organismes connus, contenant 10^7-10^8 organismes viables/ml environ. La source des micro-organismes est référencée dans la légende ci-dessous :

Virus

Adénovirus[a] Calicivirus[a]

Rotavirus[a]

Bactéries

Acinetobacter sp *Listeria monocytogenes*
Aeromonas hydrophila *Neisseria gonorrhoea*
Bacteroides fragilis *Peptococcus sp*
Campylobacter coli *Peptostreptococcus sp*
Citrobacter freundii *Proteus sp*
Clostridium difficilea *Pseudomonas aeruginosa*
Clostridium perfringens *Salmonella typhimurium*
Enterobacter cloacae *Serratia marcescens*
Enterococcus faecalis *Shigella sonnei*
Escherichia coli *Staphylococcus aureus*
Gardnerella vaginalis *Staphylococcus epidermidis*
Haemophilus influenzae *Streptocoque B-hémolytique du groupe A*
Klebsiella sp *Veillonella sp*
Lactobacillus sp

Autres micro-organismes

Candida albicans

Légende :

[a] Micro-organismes présents et testés dans les fèces

Tous les autres micro-organismes ont été cultivés et testés dans un bouillon de culture.

14. BIBLIOGRAPHIE

1.Madeley, C.R. (1990)

Viruses associated with Acute Diarrhoeal Disease.

In Principles and Practices of Clinical Virology.

(eds A.J. Zuckerman et al). John Wiley and Sons Ltd., 188-189.

2.Carter, M.J. (1994)

Genomic organisation and expression of astroviruses and caliciviruses.

Arch. Virol., (Suppl.) 9: 429-439

3. Walter, J.E. and Mitchell, DK (2000)

Role of Astrovirus in childhood diarrhea.

Current Opinion in Pediatrics, 12: 275-279

4.Lew, J.F., Glass, R.I., Petric, M. et al (1990)

Six year retrospective surveillance of gastroenteritis viruses identified at ten electron

microscopy centres in the United States and Canada.

Ped. Infect. Dis. J., 9: 709-714

5. Herrmann, J.E., Taylor, D.N., Echeverria P. et al (1991)

Astroviruses as a cause of gastroenteritis in children.

N. Engl. J. Med., 324: 1757-1760

6. Oliver, A.R. and Phillips, A.D. (1988)

An electron microscopical investigation of faecal small round viruses.

J. Med. Virol., 24: 211-218

7.Putzker, M., Sauer, H., Kirchner, G. and Malic, A. (2000)

Community acquired diarrhea – the incidence of astrovirus infections in Germany.

Clin. Lab., 46: 269-273

8.Utagawa, E.T., Nishizawa, S., Sekine, S., Hayashi, Y., Ishihara, Y., Oishi, I., Iwasaki, A., Yamashita, I., Miyamura, K., Yamazaki, S., Inouye, S., Glass, R.I.(1994)

Astrovirus as a Cause of Gastroenteritis in Japan.

Journal of Clinical Microbiology, 1841-1845

9. Oishi, I., Yamazaki, K., Kimoto, T., Minekawa, Y., Utagawa, E., Yamazaki, S., Inouye, S., Grohmann, G.S., Monroe, S.S., Stine, S.E., Carcamo, C., Ando, T.,Glass, R.I. (1994)

A large Outbreak of Acute Gastroenteritis Associated with Astrovirus among Students and Teachers in Osaka, Japan.

Journal of Infectious Diseases, 170: 439-443

10.Willcocks, M.M., Carter, M.J. and Madeley, C.R. (1992)

Astroviruses

Reviews. Med. Virol., 2: 97-106

11. Willcocks, M.M., Carter, M.J., Silcock, J.G., and Madeley, C.R. (1991)

A dot-blot hybridisation procedure for the detection of astrovirus

in stool samples.

Epidemiol. Infect., 107: 405-410

12.Lee, T.W. and Kurtz, J.B. (1981)

Serial Propagation of astrovirus in Tissue Culture with the Aid of Trypsin.

J. Gen. Virol., 57: 421-424

13.Willcocks, M.M., Carter, M.J., Laidler, F.R., and Madeley, C.R. (1990)

Growth and characterisation of human faecal astrovirus in a continuous cell line.

Arch. Virol., 113: 73-81

14.Jonassen, T.O., Kjeldsberg, E. and Grinde, B. (1993)

Detection of human astrovirus serotype 1 by the polymerase chain reaction.

J. Virol. Methods., 44: 83-88

15.Herrman, J.E., Nowak, N.A., Perron-Henry, D.M., Hudson, R.W., Cubitt, W.D., and Blacklow, N.R. (1990)

Diagnosis of Astrovirus Gastroenteritis by Antigen Detection with Monoclonal Antibodies.

J. Infect. Dis., 161: 226-229

16.Tanaka, M., Nakayama, H., Sagiyama, K., Haraoka, M., Yoshida, H., Hagiwara, T., Akazawa, K., Naito, S. (2000)

Evaluation of a new amplified enzyme immunoassay (EIA) for the detection of Chlamydia trachomatis in male urine, female

endocervical swab and patient obtained vaginal swab specimens

J. Clin. Path., 5: 350-354

17.Chernesky, M., Jand, D., Copes, D., Patel, J., Petrich, A., Biers, K., Sproston, A., Kapala, J. (2001)

Comparison of a polymer conjugate-enhanced enzyme immunoassay to ligase chain reaction for diagnosis of Chlamydia trachomatis in endocervical swabs

J. Clin. Micro., 2306-2307

18.Kurtz. J.B., and Lee, T.W. (1987)

Novel diarrhoea viruses: Astroviruses: human and animal.

Willey, Chichester (Ciba Foundation Symposium 128), 92-107

19.Moe, C.L., Allen, J.R., Monroe, S.S. et al (1991)

Detection of Astrovirus in Paediatric Stool samples by Immunoassay and RNA probe.

J. Clin. Micro., 29: 2390-2395

20.Kurtz, J.B. and Lee, T.W. (1978)

Astrovirus gastroenteritis. Age distribution of antibody.

Med Microbiol. Immunol., 166: 227-230

21.Lee, T. W. and Kurtz, J. B. (1994)

Prevalence of human astrovirus serotypes in the Oxford region 1976 – 92, with evidence for two new serotypes.

Epidemiol. Infect., 112: 187-193

22.Nazer, H., Rice, S., Walker-Smith, J.A. (1982)

Clinical associations of stool Astrovirus in childhood.

J. Pediatr Gastroenterol. Nutr., 1: 555-5

ProSpecT™ est une marque déposée

CE

Oxoid Ltd, Wade Road, Basingstoke, Hants RG24 8PW UK

X7599B révisé mai 2012

Pour obtenir une assistance technique, veuillez contacter votre distributeur local